

Die Ergebnisse werden in die Strategieempfehlungen des amtlichen Pflanzenschutzdienstes aufgenommen um ein entsprechendes Resistenzmanagement in der Praxis umzusetzen.

**214-Dubos, T.; Pogoda, F.; Casanova, A.; Pasquali, M.; Hoffmann, L.; Beyer, M.**

Centre de Recherche Public - Gabriel Lippmann de Recherche Public-Gabriel Lippmann

### **Vergleich der Sequenzen der Succinat Dehydrogenase Untereinheiten B, C und D von *Fusarium graminearum* und *Septoria tritici* in Relation zur Isopyrazam Sensitivität**

*Comparing succinate dehydrogenase subunit sdhB, sdhC and sdhD sequences of Septoria tritici and Fusarium graminearum in relation to their isopyrazam sensitivity*

The sensitivity of 41 strains of *Septoria tritici*, causal agent of *septoria* leaf blotch on wheat, as well as 41 strains of *Fusarium graminearum*, one of the causal agents of *Fusarium* head blight, were screened against isopyrazam, a new fungicide from the succinate dehydrogenase inhibitor (SDHI) family.

All *S. tritici* strains were sensitive towards isopyrazam, with EC50s ranging from 0.00281 to 4.53mM, whereas all *F. graminearum* strains were found to be highly resistant, with a maximum of inhibition converging to only 25 % with increasing isopyrazam concentration. All 41 *F. graminearum* isolates, which had been isolated in Europe and North America between 1969 and 2009, were able to grow in presence of the maximum concentration of isopyrazam tested, 2.78 mM, corresponding to approximately 2.4 times the recommended concentration for field application.

Subunits sdhB, sdhC and sdhD of the succinate dehydrogenase, the target of SDHIs, were sequenced in 7 isolates of *F. graminearum* and 7 isolates of *S. tritici*. In the predicted amino acid sequence, mutation B-H278Y/R, reported to be responsible for SDHI resistance in other fungi, was not detected in *F. graminearum*. *Septoria tritici* amino acid sequences were found to be highly similar to those of other fungi already sequenced. Predicted sdh amino acid sequences of subunits B, C and D were identical among *F. graminearum* strains. Apart from previously described point mutations, sequences of the Fe-S cluster, the metal binding domains of the succinate dehydrogenase subunit B (sdhB), and the amino acids that stabilize ubiquinone and the amino acids that provide the necessary hydrophobic environment that stabilizes the ubiquinone ring were very well conserved in *F. graminearum* as well as in other fungal species from 6 genera, where information on SDHI resistance was available. Variations being unique to *F. graminearum* within the range of species where information on SDHI resistance was available, were B-D145N, B-Q147V and B-A292T located in the third Fe-S cluster of sdhB and an additional S at amino acid position 90 of sdhC, where all other species had a gap in the aligned amino acid sequences. No variation was found among the *S. tritici* strains in subunits B and D. Two variations were observed within the subunit C sequences of *S. tritici* strains: C-N33T and C-N34T. The difference in EC50 values between *S. tritici* strains with the NN and TT configuration was non-significant at P=0.289. Two outliers in the *S. tritici* group with significantly higher EC50 values that were not related to mutations in the sdhB, sdhC, or sdhD were detected.

**215-Gerth, S.; Braun, C.; Racca, P.; Kleinhenz, B.**

Zentralstelle der Länder für EDV-gestützte Entscheidungshilfen und Programme im Pflanzenschutz (ZEPP)

### **Laboruntersuchungen zur Wirkung von Getreidefungiziden in Abhängigkeit von Temperatur und Konzentration**

*Laboratory studies on the efficacy of cereal fungicides dependent on temperature and concentration*

Im Rahmen der Erarbeitung eines Modells zur Prognose der Wirkung bzw. Wirkungsdauer von Getreidefungiziden wurden Daten in Laboruntersuchungen erhoben. Als Modellpathogene dienten *Septoria tritici* und *Fusarium graminearum* an Winterweizen der Sorte 'JB Asano'. Proline® (Prothioconazol) wurde als Beispiel für ein Fungizid aus der Gruppe der Azole ausgewählt. Alle Versuche wurden bei 20 °C mit Wirkstoffkonzentrationen im Bereich 0 - 10 ppm durchgeführt.

Mit *F. graminearum* und Proline® wurde ein Myzelwachstumstest auf Potato-Dextrose-Agar (PDA) durchgeführt. Zunächst wurde der Agar mit Fungizidsuspensionen in unterschiedlichen Konzentrationen versetzt. Die Agarplatten wurden dann mit einem 5 mm großen pathogenbewachsenen Agarstück beimpft. Der Myzelumfang wurde im 24-Stunden-Rhythmus solange auf Folie abgezeichnet, bis keine Veränderung mehr feststellbar war. Danach wurden die Folien eingescannt. Mit einem speziellen Computerprogramm wurde dann die Myzelfläche berechnet. Da *S. tritici* kein radiales Myzelwachstum hat, wurde für dieses Pathogen ein Myzelwachstumstest in 24 Well-Mikrotiterplatten durchgeführt. Für diesen Versuch wurde ebenfalls das Fungizid Proline® verwendet. In Glucose-Peptone-Medium wurde eine Sporensuspension (105 Sporen/ml) aus

einer sieben Tage alten Pilzkultur hergestellt. Die Sporen wurden dann für 24 Stunden bei 20 °C vorgekeimt. Die entsprechenden Konzentrationen des Fungizids wurden ebenfalls in Glucose-Peptone-Medium angesetzt. In jedes Well wurden  $\frac{1}{4}$  Sporensuspension und  $\frac{3}{4}$  Fungizidsuspension pipettiert und vermischt. Für die Kontrolle und jede Fungizidkonzentration gab es jeweils einen Blank. Für die Blanks wurden Medium und Fungizidsuspension in ein Well pipettiert. Für den Blank der Kontrolle wurde reines Medium verwendet. Die Platten wurden verschlossen und für sechs Tage bei den verschiedenen Temperaturstufen und 12h/12h Tag-Nacht-Rhythmus inkubiert. Die Bonitur erfolgte mittels Photometer bei einer Wellenlänge von 405 nm. Zur Auswertung der Daten wurde zunächst die Fläche unter der Myzelwachstumskurve, ähnlich einer AUDPC-Wert-Berechnung, ermittelt. Mit diesen Ergebnissen wurde ein Wachstumsfaktor (WF) berechnet. Die Fungizidwirkung (FW) wurde mit der Formel  $FW = 1 - WF$  berechnet. Mit den Daten wurde außerdem eine logistische Regression durchgeführt. Als Ergebnis wird die Fungizidwirkung in Abhängigkeit von der Konzentration und der Temperatur dargestellt.

Vorläufige Ergebnisse haben für *F. graminearum* gezeigt, dass Proline<sup>®</sup> bei einer Konzentration von 1,5 ppm Prothioconazol einen Wirkungsgrad von 100 % hat. Bei 1,0 ppm liegt der Wirkungsgrad immer noch bei 96 %. Unterhalb dieser Konzentration nimmt die Wirkung jedoch schnell ab. So liegt der Wirkungsgrad bei 0,8 ppm beispielsweise nur noch bei 80 %. Bei 0,1 ppm liegt die Wirkung bei 2 %. Für *S. tritici* konnte ein Wirkungsgrad von 100 % bei einer Konzentration von 2 ppm Prothioconazol ermittelt werden. Die Versuche werden bei 20 °C wiederholt und außerdem mit den Temperaturstufen 15 °C und 25 °C durchgeführt. Für *S. tritici* wird der Myzelwachstumstest zusätzlich mit dem Fungizid Epoxion<sup>®</sup> (Epoconazol) durchgeführt.

Mit Hilfe dieser ersten Daten soll während des dreijährigen Projektes ein Modul entwickelt werden, welches zusätzlich zu den Ergebnissen eines Prognosemodells (z. B. SEPTR11, *Septoria tritici*-Modell für Winterweizen) auch die potenzielle Wirkungsdauer eines Fungizids anzeigt. Dazu sollen zunächst die funktionalen Beziehungen zu den Witterungs- und Wachstumsbedingungen quantifiziert und danach in einem Simulationsmodell umgesetzt werden. Das Modell soll dann in Abhängigkeit vom Wetter und der Bestandesentwicklung eine objektive und dynamische Einschätzung des Wirkungsverlustes berechnen. Die Wirkungsdauer des Fungizids gilt als abgelaufen, wenn die relative Wirkung einen bestimmten Grenzwert erreicht hat. Damit sollen dem Praktiker alle notwendigen Informationen zur Verfügung gestellt werden, die er benötigt um eine Fungizidbehandlung möglichst ressourcen- und umweltschonend durchzuführen.

Das Projekt wird vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) gefördert.

### **216-Burgdorf, N.; Rodemann, B.**

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

### **In vitro-Screening zur Beurteilung der Wirksamkeit verschiedener Fungizide gegenüber diversen *Fusarium* Arten**

*In vitro-screening method for fungicide efficacy evaluation against different Fusarium species*

Das Auftreten von zahlreichen *Fusarium*-Arten in diversen Kulturarten führt häufig zu Pflanzenschäden und ist häufig verbunden mit der Bildung von Mykotoxinen im Pflanzengewebe. Neben Ertragsschäden sind somit auch qualitative Verluste die Folge und schränken sowohl die Verwendung für die menschliche Ernährung als auch die tierische Verwertung erheblich ein. Um am Standorten mit einem erheblichen Gefährdungsrisiko durch Fungizideinsatz die Infektion und Toxinbildung hemmen zu können, wurde zur Beurteilung der Wirksamkeit von Fungiziden gegenüber *Fusarium*-Arten ein *in vitro*-Screeningverfahren entwickelt. Es wurde dabei die Effektivität von Triazolen, Benzimidazolen und multi site inhibitoren gegenüber zwölf *Fusarium*-Species, die an Getreide und Mais vorkommen, ermittelt. In den Petrischalen-System wurden die fungiziden Wirkstoffe mit ansteigender Konzentration (0,001 bis 10 ppm) getestet und EC50-Werte berechnet. Zusätzlich wurde der Einfluss des Wirkstoffes auf die Mykotoxinbildung (Deoxynivalenol, Zearalenon, Fumonisin) im Medium untersucht. Die Ergebnisse zeigen zumeist eine fusariumspezifische Hemmung des Myzelwachstums, der sich in geringeren Toxin-konzentrationen wiederfindet. Die Anwendung dieser Testmethodik ermöglicht eine gute standardisierte Beurteilung von fungiziden Wirkstoffen im direkten Vergleich unter kontrollierten Bedingungen, was in weiteren Gewächshaus- und Freilandstudien zu validieren ist. Dadurch ist es möglich einen umfangreichen Überblick über das Leistungspotenzial zahlreicher Wirkstoffe zu erstellen.